




**PROCESSING OF YEAST REFUSE AND RESULTING PRODUCT**

**Patent number:** WO9207064  
**Publication date:** 1992-04-30  
**Inventor:** GREENSHIELDS RODERICK (GB)  
**Applicant:** GB BIOTECH (GB)  
**Classification:**  
- international: A23L1/054; A23L1/308; C12N1/06  
- european: A23L1/30P; A23L1/308B; A23L1/054C; C12N1/06B  
**Application number:** WO1991GB01819 19911017  
**Priority number(s):** GB19900022560 19901017

**Also published as:**

 EP0553176 (A1)  
 US5968811 (A1)  
 IE913567 (A1)  
 FI931737 (A)  
 EP0553176 (B1)

more &gt;&gt;

**Cited documents:**

 US4810646  
 GB1144876

**Abstract of WO9207064**

Yeast refuse having a solids content not exceeding 20 % by weight is digested with a food grade alkaline salt such as sodium bicarbonate, whole cells are separated from the extracted refuse so as to produce a material rich in disrupted cell walls which is then treated with an alkaline extraction agent and bleached either before or after the separation step, followed by lowering the pH of said bleached material using a food grade acid such as dilute hydrochloric acid. The product comprises a yeast beta-glucan which is substantially free of yeast cells, and which predominantly comprises a multiplicity of yeast ghosts or shells comprising substantially uncollapsed yeast cell walls. The yeast ghosts or shells contain a substantially lower quantity of yeast cell contents relative to the whole cells of the yeast refuse.

---

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表平6-504191

第1部門第1区分

(43) 公表日 平成6年(1994)5月19日

(51) Int.Cl. <sup>8</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I
C 1 2 N 1/16	J	7236-4 B	
A 6 1 K 7/00	K	7252-4 C	
35/72		7431-4 C	
C 1 2 N 1/18		7236-4 B	
		2121-4 B	
		A 2 3 L 1/04	

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 7 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願平3-516510	(71) 出願人	シー・ビー・シー・インターナショナル・インコーポレイテッド
(86) (22) 出願日	平成3年(1991)10月17日		アメリカ合衆国、ニュー・ジャージー州
(85) 翻訳文提出日	平成5年(1993)4月16日		07632 エングルウッド・クリフス、インターナショナル・プラザ、ビー・オー・ボックス 8000
(86) 国際出願番号	P C T / G B 9 1 / 0 1 8 1 9	(72) 発明者	グリーンズハイルド・ローデリック
(87) 国際公開番号	W O 9 2 / 0 7 0 6 4		イギリス国、ウエスト・グレーモーガン・エスエイ2・9 ジェイユー、スワンシー、スケッティ、ビーコーンズ フィールド・コート、4
(87) 国際公開日	平成4年(1992)4月30日	(74) 代理人	弁理士 江崎 光好 (外3名)
(31) 優先権主張番号	9 0 2 2 5 6 0 . 8		
(32) 優先日	1990年10月17日		
(33) 優先権主張国	イギリス (G B)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 酵母くずの処理および結果として得られた生成物

(57) 【要約】

20重量%を超えない固形分を有する酵母くずを重炭酸ナトリウムのような食品等級のアルカリ性塩で消化し、無傷の細胞を、抽出したくずから分離して分裂した細胞壁に富んだ材料を製造し、次いでそれを、アルカリ性抽出剤で処理しそして分離工程の前または後で漂白し、次いで、当該漂白された材料のpHを、希塩酸のような食品等級の酸を用いて低下させる。当該生成物は、酵母細胞の実質的にない、そして、主として、実質的にしばんでいない酵母細胞壁からなる多数の酵母ゴーストまたは殻からなる、酵母β-グルカンを含む。酵母ゴーストまたは殻は、酵母くずの無傷の細胞に対して、実質的により低い量の酵母細胞内容物を含んでいる。

## 請求の範囲

1. 20重量%を超えない固形分を有する酵母くずを処理する方法であって、
  - (a) 当該くずを食品等級のアルカリ性塩を用いて抽出し;
  - (b) 抽出したくずから無菌の細胞を分離して分装している細胞壁に富んだ材料を製造し;
  - (c) 当該材料をアルカリ性抽出剤で処理し;
  - (d) 当該材料を漂白剤または食品等級の酸化/還元剤で、当該分離工程の前にまたは後に漂白し;そして
  - (e) 当該漂白された材料のpHを、食品等級の酸を用いて低下させることを包含する、上記方法。
2. 当該アルカリ性塩が、重炭酸ナトリウムまたは重炭酸カルシウムからなる、請求項1記載の方法。
3. 当該アルカリ性塩が、当該くずの全容積に対して、2.5重量%までの量である、請求項1または2記載の方法。
4. 当該食品等級の酸が、塩酸、オルトリン酸、クエン酸または乳酸からなる、請求項1〜3のいずれか1項に記載の方法。
5. 当該酸の当該消化ミックスへの添加が、当該pHの5〜6の範囲の値への低下を引き起こす、請求項1〜4のいずれか1項に記載の方法。
6. 当該酵母くずが、2〜12重量%の固形分および5〜15cPの範囲の粘度を有する、請求項1〜5のいずれか1項に記載の方法。
7. 当該漂白が過酸化水素を用いて行われて、薄いクリーム色または白色の漂白された材料を製造する、請求項1〜6のいずれか1項に記載の方法。
8. 当該漂白された材料を、レンチンで処理することをさらに包含する、請求項1〜7のいずれか1項に記載の方法。
9. 当該酵母くず及び/又は当該方法により製造された生成物を、エンドーβ-グルカナーゼ活性を有する酵母溶解酵素で処理することを包含する、請求項1〜8のいずれか1項に記載の方法。
10. 酵母くず中の酵母細胞壁の主体内形態を実質的に保持している、グルカン含有細胞ゴースト。

## 明細書

## 酵母くずの処理および結果として得られた生成物

本発明は、酵母抽出過程からの廃棄物の処理およびこうして得られた生成物に関する。

酵母エキスは、適当な形のパン・菓子用のイーストもしくはビール酵母または別の醸造酵母（例えばガスホル製造からの）の溶解（例えば加水分解、オートリシスまたは原形質分離）によって工業的に大規模に製造され、それは、可溶性材料および実質的に完全な細胞壁に富んだ材料を生じる。後者の材料は普通は可溶性材料から遠心分離により除去される。溶解は、相当な割合の、細胞壁表面領域に少なくとも1つの露出目帯域を有する実質的に完全な細胞壁が存在する（すなわち、関連した細胞壁に穴が生じる）ように、細胞壁のかなりの分装を不可避的に生じる。暗褐色、不快な臭気を有しそしてたちまち腐敗する細胞壁を含む材料（酵母かす(yeast refuse)、すなわちrefとして知られている）は、多数の望ましくない材料、例えば、微量元素、着色物質、ホップエキス、酒石酸塩またはエステル、酸生物、バクテリア、タンパク質スライムおよび大量の不溶性成分、例えば、酵母細胞、ならびにある量の未溶解の無菌の細胞を含む;このような酵母くずは普通は捨てられる。くずが分離された可溶性材料は、普通は、有用な材料、例えば酵母エキスの抽出のために使用される。

我々は、今や、実質的に完全な細胞壁を有する（すなわち、酵母くず中の酵母細胞壁の主体内(in vivo)形態を保持している）が、しかし酵母細胞内容物のない酵母ゴーストまたは殻の複製形を製造する、酵母くずの処理方法を開発した。

すなわち、酵母ゴーストは、形態に関して、溶解した材料（酵母くず、すなわちref）のものに対応しているが無菌の酵母細胞のものに対応していない;酵母ゴーストは、実質的に酵母β-グルカンからなる。

酵母β-グルカンは、もちろん、周知である;例えば、米国特許第4810846号明細書は、成長する*Saccharomyces cerevisiae*酵母をその成長培地から分離し、完全な無菌の酵母細胞をアルカリ性消化に付して細胞のタンパク質部分を可溶性化し、そして不溶性のグルカンを酢酸で処理してβ(1-6)連鎖を促えることとなる、酵母β-グルカンの製造方法を開示している。結果として得られ

る無菌のグルカン粒子は、米国特許第4962094号明細書に、食品添加法の添加剤として使用するのに適していると開示されておりそして酵母細胞—それからそれらが得られる—のグルカンの三次元細胞構造を実質的に保持していると言われている。細胞壁は、開示された方法で効果的に破壊される;本発明によれば、結果として得られる酵母ゴーストまたは殻は、細胞壁構造の破壊なしに、細胞くずから得られる。

それ故、一面によれば、本発明は、20重量%を超えない固形分を有する酵母くずを処理する方法であって、

- (a) 当該くずを食品等級のアルカリ性塩を用いて抽出し;
  - (b) 分装しているがその他の点で完全な細胞壁に富んだ材料を預すように、抽出したくずから無菌の細胞を分離し;
  - (c) 当該材料をアルカリ性抽出剤で処理し;
  - (d) 当該材料を漂白剤または食品等級の酸化/還元剤（例えばアスコルビン酸）で、当該分離工程の前にまたは後に漂白し;そして
  - (e) 当該漂白された材料のpHを、食品等級の酸（例えばクエン酸、オルトリン酸、希硫酸または希硝酸）を用いて低下させることを特徴とする上記方法を提供する。
- 工程(a)で使用する典型的な食品等級のアルカリ性塩は、重炭酸ナトリウム、カルシウムもしくはカリウム、炭酸ナトリウム、カルシウムもしくはカリウムを包含する;重炭酸ナトリウムが最も好ましい。酵母くずは、典型的には、約2〜12重量%、例えば4〜8重量%（一般に約5重量%）の固形分および約5〜15cP（5%水性サスペンション）の範囲の粘度を有している。くずは一般に本発明による方法の工程(a)で、アルカリ性塩を用いて、一般に、実質的に外界温度で約1時間、抽出される。アルカリ性塩（それは、既に記載したように、好ましくは重炭酸ナトリウムである）は、酵母くず（液体および固体）の全容積に対して、好ましくは2.5重量%まで（好ましくは約1重量%）の量でそして好ましくは、結果として得られる抽出されたミックスが8〜12、より好ましくは約8〜9の範囲のpHを有するように使用される。

抽出されたくずから無菌の細胞を分離して分装した細胞壁に富んだ材料を製造

することは、一般に、機械的方法によって行われ、その中通心分離が好ましい。通心機は、一般に、分選通心分離の場合には約5,000rpmで、または、静的通心分離の場合には約2,500rpmで運転される。段階(a)での重炭酸塩の使用は、分離段階を促進することが見出された(おそらく、気体発生—それは、酵母細胞ゴーストをより軽くするのに役に立つ—のため)。

分離に続いて、材料を、アルカリ性抽出および抽出剤、例えば、水酸化カリウム、水酸化ナトリウムまたは水酸化カルシウムで処理する。このアルカリ性抽出剤での処理(それは、マーセライゼーションとして知られている方法に似ている)は一般に、8~14、好ましくは約12~12.5のpHを有するアルカリ性溶液中での処理を包含する。処理は、着色された生成物の除去、不必要な材料、例えば、タンパク質の溶解、細胞壁の構造の切断および漂白工程の促進を援助する。混合物を、次いで好ましくは、少なくとも1時間約65~85℃の範囲の温度に加熱する。最終生成物が薄いクリーム色を有することが必要とされれば、使用するアルカリは水酸化カリウムまたはナトリウムからなることが好ましい；しかしながら、最終生成物が白色を有することが必要とされれば、使用するアルカリは水酸化カルシウムからなることが好ましい。

漂白段階は好ましくは、過酸化水素あるいは、生成物を食品目的で使用する場合には食品等級の酸化/還元剤(例えばアスコルビン酸)を用いて行われる；漂白は好ましくは、漂白された材料が薄いクリーム色または白色であるように行われ、このことは、結果として得られる生成物が、食品等級の材料、例えば、機能繊維として使用することが意図されている場合に有利である。漂白段階は好ましくは、反応器中で行われそして反応器中に導入される分選した細胞壁に富んだ材料の量は好ましくは、材料が、反応器容積の約半分より多くない容積を占めるように調節される。これは、漂白段階は、一般に、材料を処理する容積の実質的な増加を引き起こす発泡を伴うためである。好ましくは、発泡は、泡破壊機の状態を用いて実質的に制御されそして清泡剤を追加することによって実質的に減らされる。

最終生成物を、食品増粘剤として使用することが必要であれば、漂白された材料を好ましくは、約5~8のpHを有するリン酸/クエン酸緩衝剤と接触させそ

して酵母溶解酵素、例えばNovozym 234(それは、 $\beta$ -グルカナーゼ活性を有している)で約55~75℃の範囲の温度で約8時間処理する。反応条件は、Novozym 234のエンド- $\beta$ -グルカナーゼ活性を高めそしてエキソ- $\beta$ -グルカナーゼ活性を実質的に阻害するように、上述したように選択される。エンド- $\beta$ -グルカナーゼ処理の程度が大きければ大きいほど、生成物の脂肪類似性(lipomimetic)はより乏しく、そしてガム性はより大きくなる。次いで、酵素処理した材料を、一般に、少なくとも30分間約70~90℃に加熱し、通心分離し、再懸濁しそして好ましくは乾燥前にさらに通心分離に付する。

場合により、漂白された材料を、食品等級の酸(典型的には、塩酸またはオルトリン酸)で処理し、通心分離しそして、レシチンで処理し得る(最終生成物を増粘剤として使用することが不要であれば)。次いで材料を乾燥前にさらに通心分離し得る。漂白された材料をレシチンで処理することは、レシチンが、酵母くずに属するいかなる残余のフレーバーまたは臭気をもマスクするのに助けるので、有利である。

pHを食品等級の酸で低下させることは、通心分離する材料を洗浄することによって行われ得、または続いて行われ得る。pHは一般に一段階で、または最初に約6~7.5(例えば約7.0)の値にそして後の段階でpH約5~6に低下させることにより、5~8のpHに低下される。

さらに、本発明により、無傷の酵母細胞を実質的に含まないそして主として、実質的にしぼんでいない(uncollapsed)酵母細胞壁からなる多数の細胞ゴーストまたは殻からなる、その際、当該酵母ゴーストまたは殻は当該酵母くずの無傷の細胞と比較して実質的により低い量の酵母細胞内容物を含む、酵母 $\beta$ -グルカンを含む生成物が提供される。

一般に、それぞれの酵母ゴーストは、もとの細胞と実質的に同一の形状および大きさを有する、5~20ミクロンの範囲の最大寸法を有している。

結果として得られる生成物はさらに、出発酵母くず(それは容易に買収する)と比べて、その安定性によって特徴づけられ、その際、このような改修された安定性は、材料が食用に適する生成物のために必要とされる時に有利である。本発明はそれ故さらに、無傷の酵母細胞を実質的に含まない薄いクリーム色または白

色の酵母 $\beta$ -グルカンを含む貯蔵安定な食用に適する生成物を包含する；生理的機能繊維を含む生成物は、粒性の、半固体の形であり得るかまたはそれは乾燥(一般に凍結乾燥または噴霧乾燥による)されて粉末材料とし得る。食用に適する生成物は、本発明の好適な実施態様において、脂肪類似性でありそして、例えば脂肪代替物として使用され得るかまたはさらに別の食品成分と一緒に使用され得る。いくつかの実施態様において、食用に適する生成物はさらに加工されて、ガムまたは増粘剤の性質を帯びた生成物を製造することができ、それは、一般に、少なくとも300cP(5%水性サスペンション)の水準の粘度を有する。

いくつかの実施態様において、生成物は、生物学的に容認できるキャリアーとして使用するのに好適に適合している。特に、酵母ゴーストまたは殻は、有益な物質(例えば、製造上または薬理上の調製物または食品源)を動物の畜養に投与することを可能にする、移動媒体を提供することができる。

本発明による方法により得られる生成物は、食品以外の目的で使用され得、そしてこれはその場合であれば、それは、例えば、アセトンなどを用いる溶剤抽出によって、さらに精製され得る。生成物を、水酸化物または漂白剤、例えば、次亜塩素酸塩を用いてさらに漂白することもでき、それにより、白色生成物が得られ得る。得られる生成物は、局所性(皮膚治療)の配合物中で使用され得、それは、化粧用または薬理学的に活性であり得る。

本発明はそれ故さらに、場合により1種またはそれ以上の局所的な容認できる成分(例えば、ビタミン、香料、アミノ酸、薬物など)と共に、酵母の無傷の細胞を実質的に含まない酵母 $\beta$ -グルカンを含む、局所配合物を包含する。

本発明の好適な実施態様を、添付図面を参照して説明する。図面中：

図1は、酵母エキスを製造する慣用の方法の第一段階を示すフローチャートであり、酵母くず(本発明の方法の出発材料)が製造される段階を示す；

図2は、本発明による方法の典型的な実施態様を図式的に説明するさらに別のフローチャートである；

図3は、同焦点顕微鏡検査により得られた本発明による生成物の顕微鏡写真を示す；

図4は、同焦点顕微鏡検査により得られた $\beta$ -グルカンの比較顕微鏡写真を示す；そして

す；そして

図5は、同焦点顕微鏡検査により得られた、本発明による生成物および図3に無傷の $\beta$ -グルカン粒子を溶解する顕微鏡写真を示す。

図1に関して、ビール酵母Aを、細胞壁を破壊するための溶剤段階に還す前に、場合により、にがみを除去し(dolbitter)Bそして、場合により別の酵母C、Dと混合する。溶剤段階は、説明された実施態様において、オートリシスE(細胞壁の外側で塩化ナトリウムのような溶剤を使用することによる、細胞内容物とそれらの周囲の間の浸透平衡を非活性化(inactivate)せずに細胞を殺すような注意深い熱処理)、または加水分解G(酸、例えば、塩酸を一般に使用する)であることができる。溶解した生成物を次いで、典型的には通心分離機H中で分離する。細胞体を含むフラクシオンJは、酵母くず(すなわちref)、本発明による方法の出発材料である；残余の材料Kは慣用の技術により酵母エキスを加工するために回す。酵母くずは一般に約5~15cP(5%水性サスペンション)の範囲の粘度を有する。

図2に関して、酵母抽出方法Xからの酵母くずJ(一般に約5重量%の固形分を有している)を重炭酸ナトリウムで(一般に、ミックスが約8.0~9.0のpHを有するように、refの容積に対して、約1重量%の量で)処理する。次いでミックスを、攪拌段階Lで、一般に室温で約1時間攪拌し、そしてアルカリ性抽出剤、例えば水酸化カリウムを用いるアルカリ性処理および抽出(マーセライゼーション)を一般に包含する分離段階Mに付する。分離段階は2つの流れ、分選した細胞壁Nおよび未分選の細胞Pを生じる。分選した細胞壁Nを次いで、漂白段階Qで漂白剤または食品等級の酸化/還元剤で処理する。好ましい漂白剤は過酸化水素または食品等級の酸化/還元剤、例えばアスコルビン酸(しかしながら、非食品の最終用途の場合には、漂白剤は、次亜塩素酸塩などであることができる)である。

漂白段階Qは好ましくは、泡破壊機の状態を用いる制御された発泡を包含する。発泡は、さらに80%の反応容積を占め得るが、清泡剤で減ぜられ得る。次いで漂白された材料を、リン酸/クエン酸緩衝剤で処理しそして混合物のpHを約5.5に調整する。次いで漂白された細胞壁を約85℃に加熱しそして酵母溶解酵素

(典型的にはNovo 234β-グルカナーゼ)で約6時間処理する。酵母処理した材料を次いで、反応容器中に置きそして水浴または水ジャケットのいずれかを用いて、少なくとも30分間約80℃の温度に間接的に加熱する。次いで材料を段階Rでさらに遠心分離し、再懸濁し次いで最後に遠心分離する。結果として得られる組成物は、食品等級の機能性材料Sであり、それは、それとして使用されるかまたは乾燥(一般に噴霧または凍結乾燥による)されて粉末を製造し得る。結果として得られる乾燥材料は、水で再構成されて、乾燥前に有するのと実質的に同一の性質を有する材料を生じ得る。

本発明の第二の実施態様によれば、分離段階Mは、遠心分離機(典型的には静的遠心分離の場合には約10分間約2500rpmまたは分面遠心分離の場合には5000rpm)中の遠心分離を包含し、その後、ミックスは水で洗浄される。遠心分離された材料は2つの流れ、細胞壁Nおよび未分解細胞Pを生じる。細胞壁Nを、アルカリ試薬の希釈溶液、例えば0.5~5%W/Vの水酸化ナトリウムもしくはカリウム(クリーム色の生成物を製造する)または水酸化カルシウム(白色生成物を製造する)中で再懸濁し次いで、細胞壁NのpHが12~12.5になるように、40%の水酸化ナトリウムまたはカリウムで調整する。細胞壁Nを次いで、約1時間少なくとも70℃に間接的に加熱し(上述したように)、その後漂白段階Qを通し、そこで、材料を、漂白剤で処理しながら約1時間混合し再度少なくとも70℃に加熱する。漂白剤は好ましくは過酸化水素または食品等級の過酸化還元剤である(しかしながら、非食品の最終用途の場合には、漂白剤は次亜塩素酸塩などであり得る)。次いで過塩素酸を漂白された材料に添加して実質的に中性のpHを達成し次いで材料をRで遠心分離する。段階Rはさらに、水およびレシチンを含む懸濁媒体中で漂白された材料の再懸濁すること、さらに遠心分離することそしてさらにpHを約5.0に低下させることを包含する。結果として得られる組成物は、食品等級の機能性材料Sであり、それは、それとして使用されるかまたは乾燥されて(典型的には噴霧または凍結乾燥による)粉末を製造することができる。結果として得られる材料は水で再構成されて、乾燥前に有するのと実質的に同一の性質を有する材料を生じ得る。

未分解細胞を、消化相T(典型的には約30℃で約30分間の処理を伴う)で

壁に富んだ材料を次いで約1時間約65℃に水浴上で間接的に加熱し次いで過酸化水素で、約1時間混合しながら処理することによって漂白した。過塩素酸を次いで漂白した材料に添加して7.0のpHを達成した。材料をさらに遠心分離しそしてpHをさらに5.0に低下させた。

結果として得られた生成物(生成物A)は、いかなる無傷の酵母細胞をも実質的に含まずそして主として、実質的にほぼでない壁を有する酵母ゴーストまたは殻からなっていた。酵母ゴーストは、くずの無傷の細胞と比較してより低い量の酵母細胞内容物を含まずそして化粧品用配合物(実施例2で例示されているような)、製菓配合物(実施例3で例示されているような)、清浄試薬(実施例4で例示されているような)、食用に適する調製物(実施例5で例示されているような)の中で使用するのに、または、殺虫剤のための移動媒体として使用するのに(実施例6で例示されているように)適していた。

#### 実施例2

以下のものは、化粧品用クリームとして使用するのに適当な局所配合物である：

成分	%濃度 (w/v)
生成物A	10%
ホウ酸	10%
グリセリン	14%
アーモンドから絞り出された油	5%
グリコニン	5%
ラベンダー油	0.05%

必要に応じて、蒸留水が上記混合物に添加され得る。

#### 実施例3

以下の配合物は、局所適用のための製菓組成物として使用するのに適している：

成分	%濃度 (w/v)
生成物A	10%
フェノキシエタノール(乳化基材)	1%
ヒドロクチンアセート	0.1~2.5%
クロクロレゾール(乳化基材中)	0.1%

酵母溶解酵素(例えばNovo 234β-グルカナーゼ)で消化する。酵素消化材料を次いで遠心分離段階Uに通し、それから、抽出段階Xに通される主として液体の相および、酵母くずJの残りと混合される主として固体の相が製造される。

図3に関して、マイクロ写真中に示された酵母β-グルカンは、無傷の酵母細胞を實質的に含まずそして主として多数の酵母ゴーストまたは殻を含む。酵母ゴーストまたは殻は、實質的に完全なままでありそして酵母かすの無傷の細胞中に最初に存在するより實質的により低い量の細胞材料を含む酵母細胞壁からなる。

図4(これは比較するためのものである)は、米国特許第4810848号明細書による方法によって製造されたβ-グルカン粒子を示す。グルカン粒子は、集合した無傷のβ-グルカン粒子からなる。示されたグルカン粒子は、図3によって図解された酵母ゴーストまたは殻と明らかに異なる。

図5に関して、本発明による酵母β-グルカンゴーストまたは殻、および(マイクロ写真の最下部、中央に)米国特許第4810848号明細書による方法により製造された集合した無傷のβ-グルカン粒子が示されている。図5に示されるように、酵母β-グルカンゴーストまたは殻は、それぞれの集合したβ-グルカン粒子よりも實質的に大きい。

本発明を、以下の実施例によりさらに説明するが、それらは本発明の範囲を少しも限定するものではない。

#### 実施例1

ビール酵母を、細胞膜を分解する(break up)ために、オートリシスに付した。溶解した生成物を次いで遠心分離によって分離して酵母くずを製造し、その後、フラクションは、10cP(5%水性サスペンション)の粘度を有する細胞体を含んでいた。

酵母くずを次いで、重炭酸ナトリウムで処理してpH8.5の抽出ミックスを製造した。ミックスを次いで室温で約1時間攪拌し、そしてさらに分離するために遠心分離した。

遠心分離した材料は、2つの流れ、すなわち細胞壁に富んだ材料および未分解細胞を生じた。細胞壁に富んだ材料を2.5%水酸化ナトリウム中で再懸濁し次いで40%水酸化ナトリウムを添加して材料のpHを12.5に調整した。細胞

必要に応じて、蒸留水が、痕跡量(1~2ppm)のメチル-p-ヒドロキシベンゾアートを一般に含む乳化基材(この場合フェノキシエタノール)に添加され得る。

#### 実施例4

次のものは、家庭用清毒剤として使用するのに適している配合物である。

成分	%濃度 (w/v)
高沸点タール酸	
(沸点範囲 220℃~325℃)	40%
生成物A	5~8%
50%スルホン化ひまし油	0~4%

必要に応じて、水が、上記混合物に添加され得る。

#### 実施例5

以下の配合物は、食用に適する生成物として使用するのに適しており、その中、本発明による生成物は、香料用のキャリアーとして存在する。

成分	%濃度 (w/v)
生成物A	98.45%
チーズ油	1%
塩	0.5%
レシチン	0.05%

レシチンは、配合物中に含まれて、酵母くずに属するいかなる残余のフレーバーまたは臭気をもマスクするのに役に立つ。

必要に応じて、飲用に適した水が、上記混合物に添加され得る。

#### 実施例6

以下のものが、殺虫剤を運ぶ放出できる移動媒体として使用するのに適当な配合物である：

成分	%濃度 (w/v)
生成物A	2~4%
レシチン	0.1%
ピレトリン	0.4%

ピペロニルブトキシド 1.0%

必要に応じて、水が、上記混合物に添加される。

実施例2〜6に記載した配合物は、30〜50cP(5%水溶液)の範囲の粘度を有している。

#### 実施例7

次のものは、潤滑のないドレッシングとして使用するのに適している配合物である。

成分	%濃度 (w/v)
水	76.4
卵黄	4.9
HPC*	4.9
シロ糖	3.2
酢(12%酢酸)	3.1
塩	1.5
マスタード粉	0.1
ソルビン酸カリウム	0.1
キサンタンガム	0.1
生成物A	6.0

\* HPCは、ワキシーマイズから作られた変性デンプンである。

全ての乾燥成分を、ビン中で混合しそして水および酢を添加し、次いで、当該混合物を90℃に加熱しそしてこの温度で30秒間保った。

次いで当該混合物を20℃に冷却しそしてビンおよび内容物の重さを再度測った。蒸発による重量の損失は、水の添加によって修正した。

卵黄を、デンプンペーストに高速攪拌ミキサーで混合しながら徐々に添加した。

混合は、最後の油および卵が添加された後、3分間続けられた。

高く容認できるドレッシングが得られ、それは、無菌ジャー中で4℃で貯蔵される時、良好な貯蔵寿命を有していた。

類似の配合物を、水および生成物Aの代わりに32.5%の油および4.9%の水を用いて作った。類似の生成物が得られ、本発明による潤滑のない配合物

が、高く容認できるドレッシングであることを示した。

Fig. 1

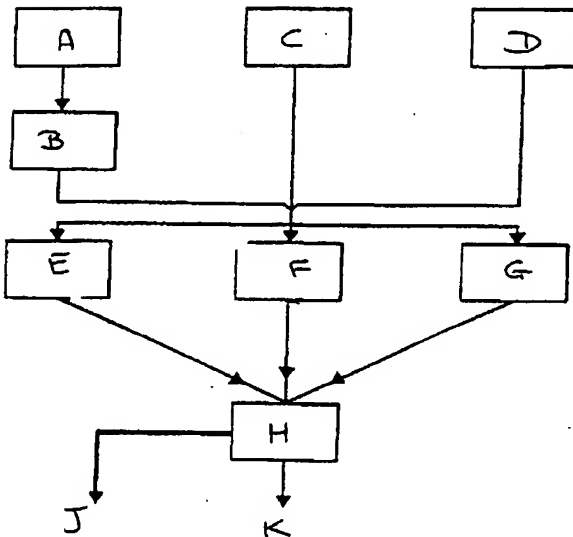


Fig. 2

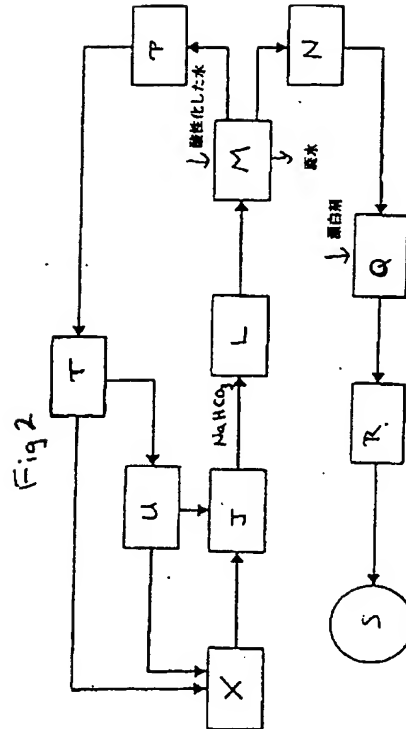


FIG. 3



FIG. 4

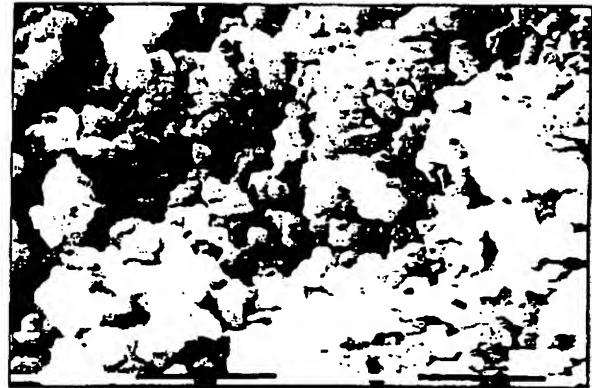


FIG. 5



INTERNATIONAL PATENT COOPERATION PCT/COOP 91/01819 1. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER: At least one classification applies, indicate first Assigning International Classification: BPC or to two National Classifications and IPC Int. Cl. 5 C12N1/06; A23L1/208; A23L1/064	
2. FIELD OF INVENTION: Microbiology, Immunology, Immunology	
3. INVENTOR'S NAME:	4. INVENTOR'S ADDRESS:
5. INVENTOR'S COUNTRY:	6. INVENTOR'S NATIONALITY:
7. INVENTOR'S RESIDENCE:	8. INVENTOR'S REPRESENTATIVE:
9. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S ADDRESS:	
10. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S COUNTRY:	
11. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S NATIONALITY:	
12. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S RESIDENCE:	
13. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S ADDRESS:	
14. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S COUNTRY:	
15. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S NATIONALITY:	
16. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S RESIDENCE:	
17. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S ADDRESS:	
18. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S COUNTRY:	
19. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S NATIONALITY:	
20. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S RESIDENCE:	
21. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S ADDRESS:	
22. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S COUNTRY:	
23. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S NATIONALITY:	
24. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S RESIDENCE:	
25. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S ADDRESS:	
26. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S COUNTRY:	
27. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S NATIONALITY:	
28. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S RESIDENCE:	
29. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S ADDRESS:	
30. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S COUNTRY:	
31. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S NATIONALITY:	
32. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S RESIDENCE:	
33. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S ADDRESS:	
34. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S COUNTRY:	
35. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S NATIONALITY:	
36. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S RESIDENCE:	
37. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S ADDRESS:	
38. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S COUNTRY:	
39. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S NATIONALITY:	
40. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S RESIDENCE:	
41. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S ADDRESS:	
42. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S COUNTRY:	
43. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S NATIONALITY:	
44. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S RESIDENCE:	
45. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S ADDRESS:	
46. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S COUNTRY:	
47. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S NATIONALITY:	
48. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S RESIDENCE:	
49. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S ADDRESS:	
50. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S COUNTRY:	
51. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S NATIONALITY:	
52. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S RESIDENCE:	
53. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S ADDRESS:	
54. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S COUNTRY:	
55. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S NATIONALITY:	
56. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S RESIDENCE:	
57. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S ADDRESS:	
58. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S COUNTRY:	
59. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S NATIONALITY:	
60. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S RESIDENCE:	
61. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S ADDRESS:	
62. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S COUNTRY:	
63. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S NATIONALITY:	
64. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S RESIDENCE:	
65. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S ADDRESS:	
66. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S COUNTRY:	
67. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S NATIONALITY:	
68. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S RESIDENCE:	
69. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S ADDRESS:	
70. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S COUNTRY:	
71. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S NATIONALITY:	
72. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S RESIDENCE:	
73. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S ADDRESS:	
74. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S COUNTRY:	
75. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S NATIONALITY:	
76. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S RESIDENCE:	
77. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S ADDRESS:	
78. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S COUNTRY:	
79. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S NATIONALITY:	
80. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S RESIDENCE:	
81. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S ADDRESS:	
82. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S COUNTRY:	
83. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S NATIONALITY:	
84. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S RESIDENCE:	
85. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S ADDRESS:	
86. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S COUNTRY:	
87. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S NATIONALITY:	
88. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S RESIDENCE:	
89. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S ADDRESS:	
90. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S COUNTRY:	
91. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S NATIONALITY:	
92. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S RESIDENCE:	
93. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S ADDRESS:	
94. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S COUNTRY:	
95. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S NATIONALITY:	
96. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S RESIDENCE:	
97. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S ADDRESS:	
98. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S COUNTRY:	
99. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S NATIONALITY:	
100. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S RESIDENCE:	
101. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S ADDRESS:	
102. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S COUNTRY:	
103. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S NATIONALITY:	
104. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S RESIDENCE:	
105. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S ADDRESS:	
106. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S COUNTRY:	
107. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S NATIONALITY:	
108. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S RESIDENCE:	
109. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S ADDRESS:	
110. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S COUNTRY:	
111. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S NATIONALITY:	
112. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S RESIDENCE:	
113. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S ADDRESS:	
114. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S COUNTRY:	
115. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S NATIONALITY:	
116. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S RESIDENCE:	
117. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S ADDRESS:	
118. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S COUNTRY:	
119. INVENTOR'S REPRESENTATIVE'S NATIONALITY:	

特表平6-504191 (7)

国際調査報告

GB 9101919  
SA 92297

B. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT (CONTINUED FROM THE SECOND SHEET)		Publication No.
Category	Character of documents, their relationship, their appropriateness, if the relevant category	Reference to Class No.
A	<p>STARKE vol. 37, no. 6, June 1985, WEINHEIM, DEUTSCHLAND pages 209 - 211; P. SEETHANATHAN &amp; LI FU CHEN: 'Modified cellulose products by bleaching and its uses- a preliminary study.' see page 209 see page 211</p>	1,7,17

This report lists the patent family members related to the patent application cited in the above-mentioned international search report. The numbers are as transmitted to the European Patent Office (EPO) by the EPO. The European Patent Office is in no way liable for those publications which are merely given for the purpose of information. 22/01/92

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family (number)	Publication date
US-A-4810646	07-03-89	US-A- 4992540 US-A- 5037972	12-02-91 06-08-91
GB-A-1144876		None	

For more details about this report, see Official Journal of the European Patent Office, No. 12/92

フロントページの続き

(51) Int. Cl.<sup>5</sup>                      識別記号      序内整理番号      F I  
 // A 2 3 L    1/054  
                  1/24                      2121 -4B  
                  1/27                      2114 -4B  
 (C 1 2 N    1/16  
   C 1 2 R    1:865)

(81) 指定国              EP(AT, BE, CH, DE,  
 DK, ES, FR, GB, GR, IT, LU, NL, S  
 E), AT, AU, BB, BG, BR, CA, CH, D  
 E, DK, ES, FI, GB, HU, JP, KP, KR  
 , LK, LU, MC, MG, MW, NL, NO, PL,  
 RO, SD, SE, SU, US



【公報種別】特許法第17条第1項及び特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】平成11年(1999)6月8日

【公表番号】特表平6-504191

【公表日】平成6年(1994)5月19日

【年通号数】

【出願番号】特願平3-516510

【国際特許分類第6版】

C12N 1/16

A61K 7/00

35/72

C12N 1/18

// A23L 1/05

(C12N 1/16

C12R 1:865 )

【F I】

C12N 1/16 J

A61K 7/00 K

35/72

C12N 1/18

A23L 1/04

手続補正書

平成10年10月12日

特許庁長官様

1. 事件の表示

平成3年特許願第516510号

2. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

名称 シー・ビー・シー・インターナショナル・インコーポレイテッド

3. 代理人

住 所 〒105-0001 東京都港区虎ノ門2丁目8番1号

電話03(5561)1476 (代表) FAX 03(5563)9577

氏 名 弁理士 (6956) 江崎 光 史

4. 補正により増加する請求項の数 1

5. 補正対象書類名

説明書、請求の範囲

6. 補正対象項目名

説明書、請求の範囲

7. 補正の内容

別紙の通り。

明細書

酵母かすの処理およびこれによって得られた生成物

本発明は、酵母抽出液から得られた廃棄物の処理およびこれによって得られた生成物に関する。

酵母エキスは、通常の形のパン・菓子用のイーストもしくはビール酵母または別の酵母（例えばガソール製造から得られる）の溶解（例えば加水分解、自己溶解またはプラスモリシス）によって工業的に大規模に製造される。これは、可溶性材料およびほとんど完全な細胞壁に包んだ材料を結果として生じる。後者の材料は通常、可溶性材料から浮心分離により除去される。細胞壁表面領域に少なくとも1つの裂け目域がある、かなりの割合のほとんど完全な細胞壁が存在するので（すなわち、同様に細胞壁に穴が生じる）、この溶解は細胞壁のかなりの崩壊を必ずもたらす。暗褐色、不快な臭気を有し、たちまち腐敗する紙造紙体を含む材料（酵母かす(yeast refuse)、すなわちref）として知られている）は、多数の望ましくない材料、例えば、微量元素、着色物質、ホップニクス、腐石酸またはエスナル、酸生物、バクテリア、タンパク質スライムおよび大量の不溶性成分、例えば、脂肪球体、及び一定量の未溶解の完全な細胞壁を含有する；このような酵母かすは通常、廃棄される。かすが分離された可溶性材料は、通常食用な材料、例えば酵母エキスの抽出に使用される。

本発明者は、今や、ほとんど完全な細胞壁を有する（すなわち、酵母かす中の酵母細胞壁の生体内(in vivo)形態を保持している）が、しかし酵母細胞壁内腐敗のない酵母ゴーストまたは液の精製された形を製造する、酵母かすの処理方法を開発した。すなわち、酵母ゴーストは、形態に関して、溶解した材料（酵母かす、すなわちref）のものに類似しているが完全な酵母細胞壁のものに類似していない；酵母ゴーストは、主として酵母β-グルカンを含む。

酵母β-グルカンは、もちろん、周知である；例えば、米国特許第4,810,646号明細書には、成長するSaccharomyces cerevisiae酵母をその成長媒体から分離し、完全な酵母細胞全体をアルカリ性消化に付して細胞のタンパク質部分を可溶性化し、そして不溶性のグルカンを浮遊で処理してβ（1-6）連鎖を減らすこととなる、酵母β-グルカンの製造方法が開示されている。得られた完全な

グルカン母子は、米国特許第4962094号明細書に、食餌添加剤として使用するのに適している」と記載され、そして酵母細胞「これら上記グルカン母子は由来する」のグルカンの三次元網目構造が実質的に保持されると述べられている。この形態は、記載された方法で十分に破壊される；本発明によれば、得られた酵母ゴーストまたは殻が、細胞壁構造を破壊することなく、酵母から得られる。

それ故、本発明は、20重量%を越えない固形分を有する酵母かすを製造する方法であって、

- (a) このかすを食用品質のアルカリ性塩を用いて抽出し；
  - (b) 抽出されたかすから完全な細胞を分離し、破壊されないか、さもなければ完全な細胞壁に富んだ材料を残存させ；
  - (c) この材料をアルカリ性抽出液で処理し；
  - (d) この材料を漂白剤または食用品質の酸化/還元剤（例えばアスコルビン酸）で、上記分離工程の前に又は後に漂白し；及び
  - (e) 漂白された材料のpHを、食用品質の範囲（例えばクエン酸、オルトリン酸、希塩酸または希硫酸）を用いて下げる。
- ことを特徴とする上記方法を提供する。

工程(a)で使用する代表的な食用品質のアルカリ性塩は、重炭酸ナトリウム、カルシウムもしくはカリウム、硫酸ナトリウム、カルシウムもしくはカリウムを包含する；重炭酸ナトリウムが最も好ましい。酵母かすは、通常、約2〜12重量%、例えば4〜8重量%（一般に約5重量%）の固形分および約5〜15cP（5%水性懸濁液）の範囲の粘度を有している。かすは一般に本発明による方法の工程(a)で、アルカリ性塩を用いて、一般に、実質的に間接温度で約1時間、抽出される。アルカリ性塩（これは、上述したように、好ましくは重炭酸ナトリウムである）は、酵母かす（液体および固体）の全容量に対して、好ましくは2.5重量%まで（好ましくは約1重量%）の量で、好ましくは、生じる抽出されたミックスがpH1〜2、より好ましくは約pH9の範囲のpHを有するように使用される。

抽出されたかすから完全な細胞を分離し、破壊した細胞壁に富んだ材料を製

造することは、一般に、機械的方法によって行われ、中でも遠心分離が好ましい。遠心機は、一般に、分離遠心分離の場合に約3,000rpmで、または、静的遠心分離の場合に約2,500rpmで操作される。工程(e)での漂白剤の使用は、分離工程を促進することが見出された（おそらく、それは、酵母細胞ゴーストをより軽くするのに役立つ気体発生による）。

分離液—材料を、アルカリ性抽出および抽出液、例えば、水酸化カリウム、水酸化ナトリウムまたは水酸化カルシウムで処理する。このアルカリ性抽出液での処理（それは、マセレーションとして知られている方法に類似する）は一般に、8〜14、好ましくは約12〜12.5のpHを有するアルカリ性抽出液での処理を包含する。この処理は、着色された生成物の除去、不必要な材料、例えば、タンパク質の溶解、細胞壁の構造の破壊および漂白工程の促進を助ける。混合物を、次いで好ましくは、少なくとも1時間約65〜85℃の範囲の温度に加熱する。最終生成物が白いクリーム色を有することが必要なならば、使用するアルカリは水酸化カリウムまたはナトリウムであるのが好ましい；しかしながら、最終生成物が白色を有することが必要ならば、使用するアルカリは水酸化カルシウムであるのが好ましい。

漂白工程は好ましくは、過酸化水素あるいは、生成物を食用目的で使用する場合には食用品質の酸化/還元剤（例えばアスコルビン酸）を用いて行われる；漂白は好ましくは、漂白された材料が薄いクリーム色または白色であるように行われる。このことは、得られる生成物を、食用品質の材料、例えば、濃縮液として使用する場合に有利である。漂白上は好ましくは、反応器中で行われ、反応器中に添加される破壊した細胞壁に富んだ材料の量は好ましくは、材料が、反応器容量の約半分以上より多くない容量を占めるように監視される。これは、漂白工程が、一般に処理される材料の容量の実質的な増加を引き起こす発泡を必然的に伴うからである。好ましくは、発泡は、泡破壊パドルを用いて実質的に抑制され、消泡剤を添加することによって実質的に減少させることができる。

最終生成物を、食品増粘剤として使用することが必要ならば、漂白された材料を好ましくは、約5〜8のpHを有するリン酸/クエン酸緩衝液と調整させ、緩衝液調整液、例えばUnipon 331（それは、ノーグルカンゼリー活性を示す）

る）で約5.5〜7.5℃の範囲の温度で約4時間処理する。反応条件は、上述したように選択され、Koranyi 131のエンドーβ-グルカンゼリー活性を測るかつエキソβ-グルカンゼリー活性を実質的に阻害する。エンドーβ-グルカンゼリー処理の程度が大まければ大まかである。生成物の脂肪類似性(liposimetic)により乏しく、そして粘性はより大きくなる。次いで、酵母処理した材料を、一般に、少なくとも30分間約70〜90℃に加熱し、遠心分離し、再懸濁し、好ましくは乾燥前にさらに遠心分離に付する。

場合により、漂白された材料を、食用品質の酸（主として、塩酸またはオルトリン酸）で処理し、遠心分離して、リン酸で処理し得る（但し、最終生成物が増粘剤として使用される必要がないならば）。次いで材料を乾燥的にさらに遠心分離し得る。漂白された材料をリン酸で処理するのが望ましい。というのは、リン酸が、酵母かすに関連するすべての既存プレバクターまたは臭いを抑制するのに役立つからである。

pHを食用品質の酸で下げることは、遠心分離する材料を洗浄することによって実施するか又は引き起こされる。pHは一般に、pH7で、5〜8のpHに下げられるか又は最終に約6〜7.5（例えば約7.0）の値に、次いで後の工程でpH約5〜6に下げる。

さらに、本発明は、完全な酵母細胞を食料上含有せずかつ主として実質上崩壊していない(un-collapse)酵母細胞壁からなる多数の細胞ゴーストまたは殻からなる、酵母β-グルカンを含む生成物を提供する。その際、この酵母ゴーストまたは殻はこの酵母かすの完全な細胞と比べて実質上より低い量の酵母細胞内成分を含む。

一般に、それぞれの酵母ゴーストは、もとの細胞と実質的に同一の形状および大きさを持つ。5〜20ミクロンの範囲の最大寸法を有している。

得られた生成物はさらに、泡破壊かす（それは容易に崩壊する）と比べて、その安定性によって特徴づけられ、このような改変された安定性は、この材料が食品に面する生成物に必要である場合に有利である。本発明はそれ故さらに、完全な酵母細胞を実質上含まない薄いクリーム色または白色の酵母β-グルカンを含む貯蔵安定な食品に適用する生成物を包含する；生質的機能性成分を含む生成物は、

粘性の、半固体の形であり得るかまたはそれは乾燥（一般に凍結乾燥または噴霧乾燥による）されて粉末材料とし得る。食用に適する生成物は、本発明の好適な実施形態において、脂肪類似性であり、例えば脂肪代替物として使用されるか又はさらに別の食品成分と一緒に使用される。いくつかの実施形態において、食用に適する生成物はさらに加工されて、ガムまたは濃縮液の性質を得た生成物を製造することができ、それは、一般に、少なくとも300cP（3%水性懸濁液）の水準の粘度を有する。

いくつかの実施形態において、生成物は、生物学的に容易に消化可能なキャリアーとして使用するのに好ましく適している。特に、酵母ゴーストまたは殻は、有益な物質（例えば、製薬上または栄養学的な調製物または食品添加剤）を前駆の効力に投与することを可能にする。移動媒体(transfer media)を提供することができる。

本発明による方法により得られる生成物は、食品以外の目的で使用され得、その際、これは例えば、アセトンなどを用いる溶剤抽出によって、さらに簡便され得る。生成物を、水酸化物または漂白剤、例えば、次亜塩素酸塩を用いてさらに漂白することもでき、それにより、白色生成物が得られる。得られる生成物は、局所性（皮膚治療）の配合剤中で使用され得、それは、美容的にまたは薬理学的に活性であり得る。

本発明はそれ故さらに、場合により1種またはそれ以上の局所的な容量で成分（例えば、ビタミン、香料、アミノ酸、薬物など）と共に、完全な酵母細胞を食料上に含まない酵母β-グルカン含有剤配合剤に因する。

本発明の好適な実施形態を、添付図面を参照して説明する。図面中：

図1は、酵母β-グルカンを製造する使用の方法の第一段階を示すフローチャートであり、酵母かす（本発明の方法の原料）が製造される段階を示す；

図2は、本発明による方法の典型的な実施形態を図式的に説明するさらに別のフローチャートである；

図3は、同原点顕微鏡検査により得られた本発明による生成物の顕微鏡写真を示す；

図4は、同原点顕微鏡検査により得られたβ-グルカンの比較顕微鏡写真を示す；そして

図5は、同焦点距離顕微鏡により得られた、本発明による生成物および図4に完全な $\beta$ -グルカン粒とを同解する顕微鏡写真を示す。

図1に於いて、ビール酵母Aを、細胞膜を破壊するための前処理液に過す前に、場合により、にがみを除去し(debitter)Bとして、場合により別の酵母C、Dと混合する。溶解段階は、説明された実験段階において、オートリシスE(細胞壁の外側で塩化ナトリウムのような塩基を使用することによる、細胞内容物とそれらの周囲の質の緩衝平衡を非平衡化(inactivate)せずに細胞を裂くような塩基性の塩基)、または加水分解F(酸、例えば、塩酸を一般に使用する)であることが出来る。溶解した生成物を次いで、典型的には遠心分離機H中で分離する。細胞体を含むフラクションJは、酵母かす(すなわちref)、本発明による方法の原料材料である；残りの材料Kは慣用の技術により酵母エキスを加工するために同す。酵母かすは一般に約6〜10cP(5%水性懸濁液)の範囲の粘度を有する。

図2に於いて、酵母抽出方法Xからの酵母かすJ(一般に約95%の固形分を有している)を重炭酸ナトリウムで(一般に、ミックスが約8、0〜9のpHを有するように、ref)のpHに対して、約1重量%の量で処理する。次いでミックスを、攪拌段階で、一般に室温で約1時間攪拌し、そしてアルカリ性抽出液、例えば水酸化カリウムを用いるアルカリ性処理および抽出(マセレーション)を一般に包含する分離段階Mに付する。分離段階は3つの流れ、分離した細胞壁Nおよび未分離の細胞Pを生じる。分離した細胞壁Nを次いで、漂白段階Qで漂白剤または食品等級の酸化剤または還元剤で処理する。好ましい漂白剤は過酸化水素または食品等級の酸化剤/還元剤、例えばアスコルビン酸(しかしながら、非食品の最終用途の場合には、漂白剤は、次亜塩素酸などであることができる)である。

漂白段階Qは好ましくは、泡盛機か状態を用いる漂白剤または炭素を含む。炭素は、さらに60%の反応容量を占め得るが、消泡剤で減じられ得る。次いで漂白された材料を、ソルベ/クエン酸緩衝液で処理しそして混合物のpHを約5.0に調整する。次いで漂白された細胞壁を約65℃に加熱しそして酵母分解液(典型的にはNata 234β-グルコナーゼ)で約6時間処理する。酵母処理した材料を次いで、反応容量中に置きそして水浴または水ジャケットのいずれかを用い

で、少なくとも30分間約30℃の温度に間接的に加熱する。次いで材料を段階Rでさらに遠心分離し、内殻液を次いで最後に遠心分離する。結果として得られる生成物は、食品等級の機能性材料Sであり、それは、それとして使用され得るかまたは乾燥(一般に噴霧または凍結乾燥による)されて粉末を製造し得る。結果として得られる乾燥材料は、水で再構成されて、乾燥前に有するのと実質的に同一の性質を有する材料を生じ得る。

本発明の第二の実施態様によれば、分離段階Mは、遠心分離(典型的には静的遠心分離の場合には約10分間約2500rpmでまたは分面遠心分離の場合には5000rpmで)中の遠心分離を包含し、その際、ミックスは水で洗浄される。遠心分離された材料は2つの流れ、細胞壁Nおよび未分離細胞Pを生じる。細胞壁Nを、アルカリ試薬の希釈液、例えば0.5〜5%W/Vの水酸化ナトリウムもしくはカリウム(クリュー色の生成物を製造する)または水酸化カルシウム(白色生成物を製造する)中で再調整し次いで、細胞壁NのpHが12〜12.5になるように、40%の水酸化ナトリウムまたはカリウムで調整する。細胞壁Nを次いで、約1時間少なくとも70℃に間接的に加熱し(上述したように)、その後漂白段階Qに送る。そこで、材料を、漂白剤で処理しながら約1時間混合し再度少なくとも70℃に加熱する。漂白剤は好ましくは過酸化水素または食品等級の酸化剤/還元剤である(しかしながら、非食品の最終用途の場合には、漂白剤は次亜塩素酸などであり得る)。次いで過塩素酸を漂白された材料に添加して実質的に中性のpHを達成し次いで材料をRで遠心分離する。段階Rはさらに、水およびレシチンを含む懸濁液中で漂白された材料の再懸濁すること、さらに遠心分離することそしてさらにpHを約5.0に低下させることを包含する。粉末として得られる生成物は、食品品質の機能性材料Sであり、それは、それとして使用されるかまたは乾燥されて(典型的には噴霧または凍結乾燥による)粉末を製造することができる。結果として得られる材料は水で再構成されて、乾燥前に有するのと実質的に同一の性質を有する材料を生じ得る。

本分選細胞を、半化抽出(典型的には約30℃で約30分間の処理を伴う)で酵母分解液(例えばNata 234β-グルコナーゼ)で処理する。酵母分解材料を次いで遠心分離段階Rに送る。それから、抽出段階Xに通される主として液体の

抽出液、酵母かすJの残りを含む主として固体の相が製造される。

図3に於いて、マイクログラフ中に示された細胞B-グルカンは、完全な酵母細胞を實質上含有せずかつ主として多数の酵母ファーストまたは過を含有する。酵母ファーストまたは過は、実質的に完全なものであり、これは酵母かすの完全な細胞中に最初に存在するより実質的に低い量の細胞材料を含有する酵母細胞壁からなる。

図4(これは比較するためのものである)は、米国特許第4810646号明細書による方法によって製造されたβ-グルカン粒子を示す。グルカン粒子は、混合した完全なβ-グルカン粒子からなる。示されたグルカン粒子は、図3によって調製された酵母ファーストまたは過と明らかに異なる。

図5に於いて、本発明による酵母β-グルカンファーストまたは過、および(マイクログラフの右下、中央に)米国特許第4810646号明細書による方法により製造された混合したβ-グルカン粒子全体が示されている。図5に示されるように、酵母β-グルカンファーストまたは過は、それぞれの混合したβ-グルカン粒子よりも実質的に大きい。

本発明を、以下の実施例によりさらに説明するが、それらは本発明の範囲を少しも限定するものではない。

#### 実施例1

ビール酵母を、細胞膜を分解する(break up)ために、オートリシスに付した。溶解した生成物を次いで遠心分離によって分離して酵母かすを製造し、その際、フラクションは、10cP(5%水性懸濁液)の粘度を有する細胞体を含んでいた。

酵母かすを次いで、重炭酸ナトリウムで処理してpH8.5の抽出ミックスを製造した。ミックスを次いで室温で約1時間攪拌し、そしてさらに分離するために遠心分離した。

遠心分離した材料は、2つの流れ、すなわち細胞壁に富んだ材料および未分離細胞を生じた。細胞壁に富んだ材料を2.5%水酸化ナトリウム中で再調整し次いで40%水酸化ナトリウムを添加して材料のpHを12.5に調整した。細胞壁に富んだ材料を次いで約1時間約65℃に水浴上で間接的に加熱し次いで過塩

化水素で、約1時間混合しながら処理することによって漂白した。過塩素酸を次いで漂白した材料に添加して7.0のpHを達成した；材料をさらに遠心分離してpHをさらに5.0に低下させた。

得られた生成物(生成物A)は、いかなる酵母細胞全体をも実質的に含まずとして主として、實質上調製していない酵母酵母ファーストまたは過からなっていた。酵母ファーストは、かすの完全な細胞に比べてより低い量の酵母細胞内容物を含有して化粧用配合物(実施例2で例示されているような)、製造断片物(実施例3で例示されているような)、凍結試薬(実施例4で例示されているような)、食料に適する調製物(実施例5で例示されているような)の形で使用するのに、または、製剤のための移動媒体として使用するのに(実施例6で例示されているように)送っていた。

#### 実施例2

以下のものは、化粧用クリームとして使用するのに適当な調製物である：

成分	%重量(w/v)
生成物A	10%
ホウ酸	10%
グリセリン	14%
アーモンドから絞り出された油	5%
グリコニン	5%
ラベンダー油	0.05%

必要に応じて、蒸留水が上記割合に添加される。

#### 実施例3

以下の配合物は、局所適用のための調製物成分として使用するのに適している：

成分	%重量(w/v)
生成物A	10%
フェノキシエタノール(乳化基剤)	1%
ヒドロキシチンアセテート	0.1〜2.5%
クロロクレゾール(乳化基剤)	0.1%

必要に応じて、蒸留水が、粘度(1〜2cpm)のメチル-p-ヒドロキシ

ベンゾアートを一般に含む乳化剤材（この場合ソノキシエタノール）に添加される。

#### 実施例4

次のものは、寧嗽清痰剤として使用するのに適している配合剤である。

成分 濃度 (w/v)

清嗽素ターブル錠

(清嗽素錠 2.20g $\times$ 325 $\times$ )

4.0%

生成物A

5~8%

5.0%スルホン化ひまし油

0~4%

必要に応じて、水が、上記配合剤に添加される。

#### 実施例5

以下の配合物は、食用に適用する生成物として使用するのに適しており、その中、本発明による生成物は、香料のキャリアーとして存在する。

成分 濃度 (w/v)

生成物A

0.3, 4.5%

チーズ油

1%

塩

0.5%

レシチン

0.05%

レシチンは、配合剤に含まれて、静電くずに保つるいかなる残余のソレーバ一または臭いをも更新するのに役を演ずる。

必要に応じて、飲料水が、上記配合剤に添加される。

#### 実施例6

以下のものが、貯蔵剤を置く放出できる移動媒体として使用するのに適当な配合剤である：

成分 濃度 (w/v)

生成物A

2~4%

レシチン

0.1%

ピレトリン

0.4%

ビペロニルブトキシド

1.0%

必要に応じて、水が、上記配合剤に添加される。

実施例2~6に記載した配合剤は、3.0~5.0cP (5%水溶液)の範囲の粘度を有している。

#### 実施例7

次のものは、脂肪のないドレッシングとして使用するのに適している配合剤である。

成分 濃度 (w/v)

水

76.4

卵黄

4.9

H.P.C.\*

4.9

ショ糖

3.2

酢 (1.2%酢酸)

3.1

塩

1.5

マスタード粉

0.1

ソルビン酸カリウム

0.1

キサンタンガム

0.1

生成物A

6.0

\* H.P.C.は、ソキシメイズから作られた変性デンプンである。

全ての乾燥成分を、パン中で混合しそして水および酢を添加し、次いで、当該混合物を90℃に加熱しそしてこの温度で30秒間保持した。

次いで当該混合物を20℃に冷却しそしてパンおよび内容物の重さを再度測定した。冷却による重量の損失は、水の添加によって修正した。

卵黄を、デンプンペーストに高せん断ミキサーで混合しながら徐々に添加した。混合は、最後の油および卵が添加された後、3分間続けられた。

高く剪断できるドレッシングが得られ、それは、冷蔵庫中で4℃で貯蔵される時、良好な貯蔵寿命を有していた。

類似の配合物を、水および生成物Aの代わりに3.2, 5%の油および4.9, 9%の水を用いて作った。類似の生成物が得られ、本発明による脂肪のない配合剤が高く剪断できるドレッシングであることを示した。

#### 請求の範囲

- 2.0重量%を超えない固形分を有する酵母かすを処理する方法であって、
  - このかすを食品品質のアルカリ性塩を用いて抽出し；
  - 抽出されたかすから完全な細胞を分離し、濃縮して細胞壁に富んだ材料を製造し；
  - この材料をアルカリ性抽出液で処理し；
  - この材料を凍内用または食品品質の酸化/還元剤で、上記分離工程の前にまたは後に濃縮し；ついで
  - この濃縮された材料のpHを、食品品質の酸を用いて低下させることを特徴とする、上記方法。
- アルカリ性塩が、重炭酸ナトリウムまたは重炭酸カルシウムからなる、請求の範囲1記載の方法。
- アルカリ性塩が、かすの全容積に対して、2.5重量%までの量である、請求の範囲1または2記載の方法。
- 食品品質の酸が、食酢、オルトリン酸、クエン酸または炭酸からなる、請求の範囲1~3のいずれかに記載の方法。
- 酸の消化ミックスへの添加が、pHの5~6の範囲の値への低下を引き起こす、請求の範囲1~4のいずれかに記載の方法。
- 酵母かすを、2~12重量%の固形分および5~15cPの範囲の粘度を有する、請求の範囲1~5のいずれかに記載の方法。
- 凍止が還元化水素を用いて行われて、薄いクリーム色または白色の濃縮された材料を製造する、請求の範囲1~6のいずれかに記載の方法。
- 更に濃縮された材料を、レシチンで処理することからなる、請求の範囲1~7のいずれかに記載の方法。
- 酵母かす及び/又は上記方法により製造された生成物を、エンドーβ-グルカナーゼ活性を有する酵母菌懸濁液で処理することからなる、請求の範囲1~8のいずれかに記載の方法。
- 酵母かすの酵母細胞の生体内形態を実質的に保持している、グルカン含有細胞ゴースト。

- その中に含まれた生体的活性材料を有している、請求の範囲10記載の細胞ゴースト。
- 5~20ミクロンの範囲の最大寸法を有している、請求の範囲10または11記載の細胞ゴースト。
- 酵母β-グルカンからなる、酵母細胞全体を実質上含まない、そして主として、実質上崩壊していない酵母細胞壁からなる多数の酵母ゴーストまたは壁からなり、この酵母ゴーストまたは壁が、酵母かすの完全な細胞に比べて、実質上より低い量の酵母細胞内容物を含む、配合物。
- 酵母細胞全体を実質上含有しない、薄いクリーム色または白色の酵母β-グルカンを含む請求の範囲1記載の方法により得られた食用に適用する生成物であって、その生成物は半肉質的機能領域を含み、そして、粒性の、半同様の形にあるかまたは乾膜状の形にある生成物。
- 膨張剤として、請求の範囲14記載の生成物。
- 食品の機能領域特性を増強する方法であって、これに、請求の範囲10~12のいずれかによる酵母細胞ゴースト、請求の範囲13による物質の配合物または請求の範囲14もしくは15による食用に適用する生成物を添加することとを特徴とする方法。
- 酵母の完全な細胞を実質上含有しない酵母β-グルカンからなる同所配合物であって、この酵母β-グルカンが、請求の範囲10~12のいずれかによる酵母細胞ゴースト、請求の範囲13による物質の配合物または請求の範囲14もしくは15による食用に適用する生成物を含む配合物。
- 1種またはそれ以上の薬理学的に有効な成分と共に、請求の範囲10~12のいずれかによる酵母細胞ゴースト、請求の範囲13による物質の配合物または請求の範囲14もしくは15による食用に適用する生成物を含む、製剤。
- 実質上崩壊していない酵母細胞壁を主として含有する多数の細胞ゴーストまたは壁からなり、かつ完全な酵母細胞を実質上含有しない酵母β-グルカンを化原料中の脂肪代替物として使用する、方法。